

Wilms11-solut | 300420

Yleisiä tietoja

Description

Wilms11-solulinja on peräisin lapsipotilaan primaarisesta Wilmsin kasvaimesta (nefroblastooma). Toisin kuin monille muille Wilmsin kasvainsolulinjoille, Wilms11:lle on ominaista, että siinä esiintyy villityypistä WT1:tä, mikä tarkoittaa, että siinä ei ole mutaatioita WT1-geenissä, mikä tyypillisesti liittyy aggressiivisempiin tai stroomaperäisiin Wilmsin kasvaimiin. Wilms11-kasvaimessa oli kuitenkin merkittävää stroomaalista erilaistumista, ja siinä oli laajoja rabdomyomatoottisia erilaistumisalueita, jotka viittaavat mesenkiomaalisiin elementteihin kasvaimessa. Villin tyypin WT1:n esiintyminen yhdessä kasvaimen stroomaalisen erilaistumisen kanssa tarjoaa ainutlaatuisen mallin Wilmsin kasvainten biologian ymmärtämiseksi tapauksissa, joissa WT1-mutaatioita ei ole.

Wilmsin11 geneettiset tutkimukset ovat osoittaneet, että tässä solulinjassa on kasvainspesifinen mutaatio CTNNB1:ssä, joka koodaa β -kateniinia, jolla on ratkaiseva rooli Wnt-signaalintireitillä. Wilms11:ssä tämä mutaatio vaikuttaa seriini 45:een, joka on keskeinen fosforylaatiokohta, joka osallistuu β -kateniinin hajoamiseen. CTNNB1-mutaatio johtaa β -kateniinin stabiloitumiseen, mikä johtaa sen kertymiseen ja solujen proliferaatiota ja kasvainten syntyä edistävän Wnt-signaalintireitin konstitutiiviseen aktivoitumiseen. Tämä tekee Wilms11:stä tärkeän mallin Wnt-signaloinnin ja Wilmsin kasvainten kehittymisen välisen vuorovaikutuksen tutkimiseen, erityisesti tapauksissa, joissa WT1 säilyy ehjänä.

Wilms11:n proteomianalyysit ovat paljastaneet useiden reseptorityrosiinikinaasien (RTK), kuten PDGFR β :n ja AXL:n, aktivoituneen, ja ne osallistuvat kasvainsolujen kasvun ja eloonjäämisen ohjaamiseen. Wilms11-soluissa aktivoituvat myös alempana olevat signaalireitit, kuten MAPK- ja PI3K/AKT-reitit, jotka vaikuttavat osaltaan niiden tumorigeeniseen käyttäytymiseen. Wilms11-solujen kyky erilaistua mesenkymaalisesti, erityisesti rabdomyomatoottisesti, korostaa niiden potentiaalia mallina Wilmsin kasvaimen mesenkymaalisten komponenttien tutkimisessa. Kaiken kaikkiaan Wilms11 toimii arvokkaana välineenä tutkittaessa molekyylimekanismeja, jotka ohjaavat Wilmsin kasvainten syntyä ilman WT1-mutaatioita mutta Wnt-reitin aktivoitumisen yhteydessä.

Organism Ihminen

Tissue Munuaiset

Disease Wilmsin kasvain

Applications In vitro -soluviljelymalli. Biokemialliset tutkimukset

Ominaisuudet

Age 22 kuukautta

Gender Mies

Ethnicity Kaukasialainen

Wilms11-solut | 300420

Morphology Karanmuotoinen

Cell type Wilmsin solut

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation Wilms11 (Cytionin luettelonumero 300420)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SM

Biomolekyylitiedot

Mutational profile WT1-mutaatiotilanne: homotsygoottinen WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . CTNNB1-mutaation tila: villi tyyppi

Käsittely

Culture Medium MSCGM-pakkaus (Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliainetta.

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Wilms11-solut | 300420

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta $300 \times g$:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Wilms11-solut | 300420

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.